



Impacto dos contaminantes ambientais sobre a saúde reprodutiva de fêmeas ruminantes

Impact of environmental contaminants on reproductive health of female ruminants

L.M. Silva¹, C.M.G. Silva², D. Rondina^{1,3}

¹Laboratório de Nutrição e Produção de Ruminantes, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

²Laboratório de Manipulação de Oócitos e Folículos Pré-Antrais, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

³Correspondência: davide@pq.cnpq.br

Resumo

Diversos poluentes ambientais têm sido identificados como desreguladores endócrinos (DE). Estes agentes exógenos, além de interferirem negativamente na fisiologia hormonal, prejudicam a saúde reprodutiva de animais e humanos, gerando grandes preocupações entre comunidades científicas, bem como no âmbito da saúde pública. Esta revisão tem como objetivo apresentar e discutir estudos que relatam alterações reprodutivas causadas pela exposição a desreguladores endócrinos, enfatizando os efeitos nocivos sobre a foliculogênese, a maturação oocitária, o desenvolvimento embrionário, a gestação e a puberdade.

Palavras-chave: desreguladores endócrinos, poluentes ambientais, reprodução, ruminantes.

Abstract

Several environmental pollutants have been identified as endocrine disruptors (ED). These exogenous agents, in addition to negatively influence hormonal physiology, undermine the reproductive health of animals and humans, sparking concerns among scientific communities, as well as within public health. This review aims to demonstrate and discuss studies that have reported reproductive changes caused by exposure to endocrine disruptors, emphasizing the harmful effects on folliculogenesis, oocyte maturation, embryo development, pregnancy and puberty.

Key-words: endocrine disrupters, environmental pollutants, reproduction, ruminants.

Introdução

A presença de contaminantes no meio ambiente, originada pelos agentes poluidores da indústria ou pelo uso massivo de pesticidas e herbicidas no setor agropecuário, tem sido alvo de forte preocupação nos últimos anos no âmbito da saúde pública (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, 2010). Alguns destes contaminantes são considerados desreguladores endócrinos (DE), ou seja, são agentes exógenos que interferem na síntese, secreção, transporte, metabolismo, ligação, ação ou eliminação de hormônios responsáveis pela homeostase da saúde reprodutiva (Kavlock e Ankley, 1996).

De forma geral, os efeitos dos DE ocorrem pela ingestão direta de alimentos produzidos em solos contaminados ou, indiretamente, pela ingestão de produtos de origem animal oriundos de animais contaminados (Ounnas et al., 2010), ou, ainda, pela inalação e absorção cutânea (Rhind et al., 2010). Alguns estudos apontam que a gravidade dos efeitos depende da classe dos DE envolvidos, da concentração, do tempo de exposição e, particularmente, da idade e do estágio de desenvolvimento em que o animal exposto se encontra, ou seja, durante a vida fetal, a neonatal ou a adulta (Rubin, 2011; Meador et al., 2008). Na atualidade, é praticamente impossível prever o padrão de exposição de animais de produção, como os ruminantes, aos DE, devido à grande diversidade de agentes poluentes que são lançados constantemente ao meio ambiente (Majdi et al., 2010).

Existem várias características que tornam os DE intrinsecamente perigosos: apresentam meia-vida longa, o que resulta em um aumento constante na sua concentração no meio ambiente global; podem ser encontrados em longas distâncias a partir do local onde foram produzidos, utilizados ou liberados; e possuem baixa solubilidade em água e altíssima solubilidade em lipídios (Brevini et al., 2005). Esta última característica torna tais substâncias bioacumulativas, induzindo a sérios problemas reprodutivos, especialmente em organismos imaturos, em geral mais sensíveis, devido a uma menor capacidade de metabolização e eliminação de substâncias potencialmente tóxicas ao sistema endócrino (Aziz et al., 2001).

A partir da detecção destas moléculas no meio ambiente, uma série de anormalidades ligadas ao sistema reprodutivo em animais e seres humanos vêm sendo investigadas. Na função reprodutiva masculina tem sido descrito o aumento do número de casos de criptorquidismo, hipospádia, redução da libido, prejuízos nas produções espermática e hormonal, impotência, assim como maior incidência de tumores de testículo e próstata (Baker, 2001; Sultan et al., 2001; Garry et al., 2002; Paul et al., 2005). Em fêmeas, foram relatadas alterações no comportamento reprodutivo e na qualidade oocitária e folicular, falha na implantação, perdas de gestação, tumores de mama e baixa fertilidade ou mesmo infertilidade (Berger et al., 2008, 2010; Feugier et al., 2008). De acordo com Pocar et al. (2003), todos os órgãos endócrinos dependem de um delicado equilíbrio endógeno



hormonal, sendo que este equilíbrio pode ser perturbado pela exposição aos agentes externos, como os DE, que podem interagir com receptores hormonais, interferir na síntese e/ou alterar o metabolismo desses hormônios.

Entretanto, apesar do marcado crescimento dos setores industrial e agropecuário destes últimos anos na América Latina, especialmente no Brasil, existem ainda poucos estudos relacionando as funções reprodutivas em consequência da exposição a contaminantes ambientais em animais de produção, particularmente em ruminantes. Diante dessa problemática, este trabalho de revisão pretende apresentar e discutir os mais recentes resultados sobre as principais alterações reprodutivas causadas pela exposição a desreguladores endócrinos, dando particular atenção às fêmeas ruminantes.

Foliculogênese

A foliculogênese, resumidamente, pode ser definida como um processo que se inicia com a formação do folículo primordial e culmina com o estágio de folículo pré-ovulatório ou De Graaf (Van den Hurk e Zhao, 2005). A grande maioria dos folículos ovarianos (cerca de 99,9%) não chega à ovulação, morrendo durante a vida reprodutiva por um processo denominado atresia, o qual pode ocorrer por via degenerativa (Saumande, 1991) e/ou apoptótica (Hussein, 2005). Na via degenerativa, a isquemia pode ser uma das principais causas do desencadeamento da morte folicular (Farber, 1982), resultando em alterações na permeabilidade da membrana celular, aumento de água intracelular, vacuolização citoplasmática e, conseqüentemente, degeneração (Barros et al., 2001). No que se refere à via apoptótica, sabe-se que se trata de um evento que depende da expressão de genes pró e antiapoptóticos e tem como característica marcante a fragmentação do DNA (Hussein, 2005).

Na literatura atual, poucos trabalhos descrevem os efeitos diretos de DE sobre a ativação da via apoptótica durante o desenvolvimento folicular. Contudo, tem sido relatada a presença de poluentes ambientais no fluido folicular de vacas, ovelhas, cabras e porcas (Kamarianos et al., 2003). De acordo com Perez-Reyes et al. (2001), estes compostos podem agir como moléculas de sinalização, ou seja, atuar como agentes apoptóticos em diferentes tipos celulares. Pocar et al. (2005), testando uma mistura comercial de pesticidas (Aroclor-1254[®]), detectaram um aumento significativo na expressão do gene pró-apoptótico Bax, concomitante com uma diminuição do gene antiapoptótico Bcl-2, expressando, portanto, alto percentual de apoptose em células do *cumulus* de oócitos bovinos. Em ovinos, Fowler et al. (2008) verificaram que uma prolongada exposição, utilizando baixas doses de DE por meio da dieta, afeta gravemente o desenvolvimento folicular no ambiente ovariano fetal. Neste trabalho, foi constatado que os níveis de prolactina, fator de crescimento e diferenciação-9 (GDF-9) e genes antiapoptóticos nos ovários daqueles fetos expostos a um coquetel de DE foram significativamente inferiores quando comparado ao grupo-controle. Apesar de poucos estudos, sobretudo em animais, este tipo de alteração no padrão de expressão gênica pode ser uma das causas de subfertilidade ou até mesmo da infertilidade, devido à aceleração da depleção folicular (Tilly, 2001).

A exposição a metais pesados, como o chumbo e o cádmio, tem sido outro ponto relevante sobre o impacto de DE no desenvolvimento folicular de várias espécies (ovelhas: Leoni et al., 2002; vacas: Rodriguez-Tellez et al., 2005; coelhas: Dobranic et al., 2002; e humanos: Younglai et al., 2002). Em condições experimentais, animais que sofreram exposição ao chumbo tiveram danos no folículo ovariano (Azarnia et al., 2004) e no oócito (Avazeri et al., 2006). Silberstein et al. (2006) relataram que a presença de chumbo no fluido folicular comprometeu a taxa de gestação em humanos. Mlynarcikova et al. (2005, 2009) observaram uma supressão na expansão das células do *cumulus* induzida pelo FSH e uma significativa inibição da síntese e acumulação do ácido hialurônico em oócitos suínos expostos a diferentes concentrações de cádmio.

Na tentativa de avaliar a influência dos DE durante a foliculogênese, diversos estudos evidenciaram como estas substâncias modulam a produção de hormônios esteroides nesta fase. Grasselli et al. (2010), ao cultivarem em meio contendo bisfenol A células da granulosa oriundas de folículos suínos, observaram um efeito negativo sobre a esteroidogênese, devido à inibição da produção de estradiol e de progesterona. Além disso, foi observada uma redução significativa na concentração de estradiol, bem como na expressão de RNA mensageiro (RNAm) para aromatase P450, considerada uma enzima-chave na produção deste hormônio, ao se utilizar o bisfenol A (Zhou et al., 2008) e o mono-(2-etilhexil) ftalato (Lovekamp-Swan e Davis, 2003), no cultivo de células da granulosa e da teca oriundas de folículos de ratas. Mlynarcikova et al. (2005, 2009) observaram uma redução significativa na produção de progesterona e de estradiol, mesmo na presença de FSH, quando o bisfenol A, o bisfenol dimetacrilato e o 4-cloro-3-metilfenol foram adicionados ao meio de cultivo de células da granulosa de folículos de suínos. A esteroidogênese ovariana, portanto, pode ser um dos principais processos atingidos pela exposição aos DE. Apesar desses estudos, os mecanismos pelos quais ocorrem os efeitos tóxicos sobre as células foliculares, bem como o conhecimento sobre qual é a real relevância da morte folicular induzida por estas substâncias, ainda não foram satisfatoriamente investigados.

Maturação oocitária

Os processos de desenvolvimento e de maturação oocitária são pontos críticos para o sucesso da fertilização e dos posteriores desenvolvimentos embrionário e fetal (Feugier et al., 2008). A interrupção em



qualquer uma destas etapas prejudica consideravelmente o potencial reprodutivo de fêmeas (Rhind et al., 2010). Nesse sentido, diversos modelos vêm sendo utilizados visando estudar o efeito de poluentes ambientais sobre o desempenho reprodutivo de diferentes espécies. Dentre esses modelos, os testes *in vitro* têm sido mais utilizados em função do elevado controle das condições experimentais, da maior praticidade e da possibilidade de administrar os DE sobre as estruturas a serem estudadas (oócitos ou embriões). Younglai et al. (2002) obtiveram uma correlação significativa entre a presença de poluentes ambientais no fluido folicular e no soro sanguíneo, com falhas na maturação e/ou fertilização *in vitro* em humanos. Além disso, a presença de DE no fluido folicular humano foi correlacionada com uma redução significativa na taxa de fertilização e, conseqüentemente, no percentual de embriões de alta qualidade (Petro et al., 2012).

A Tab. 1 ilustra os principais efeitos produzidos pelos DE sobre a maturação oocitária em função da espécie estudada. Atualmente, em ruminantes existem poucas informações sobre o impacto dos DE durante a maturação oocitária, contudo alguns trabalhos já foram conduzidos em oócitos bovinos (Rodriguez-Tellez et al., 2005), bubalinos (Nandi et al., 2010) e ovinos (Leoni et al., 2002). Pocar et al. (2001a, b) descrevem que o principal efeito de pesticidas ambientais sobre a maturação de oócitos bovinos é o bloqueio do processo de maturação, ou seja, a inibição da retomada da meiose. Segundo Rodriguez-Tellez et al. (2005), a exposição de oócitos bovinos ao cádmio e ao chumbo, além de prejudicar a maturação oocitária, provoca sérias alterações acrossomais. Nandi et al. (2010), ao avaliarem o efeito da exposição a metais pesados sobre a viabilidade, a maturação, a fertilização e o desenvolvimento embrionário de oócitos de búfalos, verificaram que o cádmio e o chumbo adicionados ao meio de maturação inibiram o crescimento e o desenvolvimento oocitário. Em ovinos, Leoni et al. (2002) constataram que a exposição a metais pesados promoveu graves alterações na maturação oocitária de maneira dose-dependente. Estes autores, ao utilizarem baixa concentração de cádmio (2 µM), observaram uma expansão anormal das células do *cumulus*; já quando usaram alta concentração desta substância (20 µM), foi verificada uma completa degeneração das células do *cumulus*, conseqüentemente, foi constatado um baixo percentual de oócitos que atingiram o estágio de metáfase II.

Tabela 1. Principais efeitos dos desreguladores endócrinos sobre maturação oocitária em função da espécie estudada.

Espécie	Tipo DE	Efeito	Referências
Búfalo	Metais pesados	Retardo no crescimento e desenvolvimento de oócitos <i>in vitro</i>	Nandi et al., 2010
Camundongo	Urânio	Diminuição da qualidade oocitária	Feugier et al., 2008
Bovino	Bifenilpoliclorado	Redução da maturação oocitária, a fecundação e competência do desenvolvimento	Pocar et al., 2001a Pocar et al., 2001b
Ovino	Cádmio	Diminuição na taxa de maturação oocitária e fertilização	Leoni et al., 2002
Suíno	Atrazina fenoxapropetil, diazinona e malationa	Inibição da maturação nuclear	Casas et al., 2010
	Bifenilpoliclorado	Desorganização do fuso meiótico	Brevini et al., 2004
	Organoclorado	Redução da taxa de maturação	Campagna et al., 2001
Camundongo	Bisfenol A	Parada da atividade meiótica	Eichenlaub-Ritter et al., 2008 Lenie et al., 2008
	Bisfenol A	Alteração cromossômica	Hunt et al., 2003
	Bisfenol A	Desorganização do fuso meiótico	Can et al., 2005

Em suínos, a exposição aos pesticidas atrazina, diazinona e malationa afetou negativamente a viabilidade e a maturação oocitária, por induzir um bloqueio na transição de vesícula germinativa para metáfase II (Casas et al., 2010). Nesta mesma espécie, Brevini et al. (2005) verificaram que concentrações subletais de contaminantes ambientais afetaram negativamente a maturação do oócito, induzindo um bloqueio significativo da retomada da meiose. Além disso, Can et al. (2005), em oócitos de camundongos, mostraram que o bisfenol A (10-30 mM) causou uma inibição dose-dependente da progressão da meiose devido a uma desorganização da formação do fuso meiótico durante a meiose I e a II. Lenie et al. (2008) e Eichenlaub-Ritter et al. (2008) também encontraram um número significativamente reduzido de oócitos de camundongos em MII após exposição com bisfenol A. Segundo Mlynarcikova et al. (2009), ambos os fenóis, 4-cloro-3-metilfenol e di-(2-etilhexil) ftalato (100 mM), reduziram consideravelmente a maturação meiótica dos oócitos. Neste estudo, o número de oócitos com quebra da vesícula germinativa (VGBD) (78,7 e 72,4%, respectivamente) bem como a taxa de oócitos em metáfase II (MII; 50 e 53,6%, respectivamente) após 44 horas de cultivo foram menores em relação ao controle (89,6% para VGBD e 81,5% para MII).



Outras substâncias identificadas como potenciais DE são o bifenilpoliclorado e o fenoxapropetil, utilizados na agricultura. O primeiro diminuiu a maturação nuclear de oócitos bovinos por alterar a poliadenilação do RNA materno, modificando a migração e promovendo exocitose dos grânulos corticais (Pocar et al., 2001b). Já o segundo, um herbicida conhecido por afetar especificamente a produção de ATP por meio da inibição da acetil-CoA carboxilase (Waller et al., 2003), quando adicionado na maturação *in vitro* de oócitos suínos em condições experimentais, promoveu uma inibição da maturação nuclear por um mecanismo ainda desconhecido (Casas et al., 2010). Campagna et al. (2001) relataram que a exposição de oócitos imaturos *in vitro* a uma mistura de organoclorados diminuiu significativamente as taxas de maturação e penetração espermática em suínos.

Desenvolvimento embrionário

O desenvolvimento embrionário inicial é extremamente vulnerável aos efeitos embriotóxicos de substâncias consideradas como DE (Pocar et al., 2003). Alguns eventos responsáveis por estes efeitos foram identificados, porém os mecanismos exatos pelos quais estas substâncias interferem na qualidade embrionária ainda têm sido pouco investigados. Na espécie humana, esses estudos são extremamente limitados, em virtude dos grandes riscos à saúde. Diante disso, ainda permanecem muitas dúvidas sobre a equivalência entre as doses testadas e a concentração dos DE presente no meio ambiente. Assim, o modelo animal é o principal viés para avaliar o impacto dos DE sobre a saúde reprodutiva humana. Até o momento, a maioria dos estudos que avaliam os efeitos dos DE sobre o desenvolvimento embrionário tem utilizado os roedores como modelos, testando componentes isolados ou em associação, administrados por diferentes vias e períodos de exposição e com diferentes doses farmacológicas (Fowler et al., 2008). No que se refere a animais domésticos, os suínos e os ovinos têm sido os mais utilizados para testar o efeito de diferentes DE sobre o desenvolvimento de embriões antes e após a implantação no endométrio uterino.

Ducolomb et al. (2009), ao utilizarem os organofosforados diazinona e malationa em concentrações crescentes (0, 50 e 100 μ M), durante a fertilização *in vitro* (FIV) de gametas suínos, verificaram que a diazinona não afetou a taxa de clivagem, entretanto diminuiu o número de mórulas. Por outro lado, a malationa afetou drasticamente a viabilidade embrionária a partir das fases iniciais de desenvolvimento. Em outro estudo, nesta mesma espécie foi observado que a malationa promoveu severas alterações no padrão de expressão gênica, principalmente de genes relacionados ao metabolismo mitocondrial como as subunidades I e III do citocromo C, durante o desenvolvimento embrionário (Salazar et al., 2007).

Em camundongos, a exposição ao paraquat alterou profundamente o desenvolvimento embrionário *in vivo*, causando uma redução no percentual de embriões de oito células, bem como no número de mórulas compactas (Hausburg et al., 2005). Nesta mesma espécie, foi constatado um aumento na taxa de absorção embrionária após exposição materna ao bisfenol A (Al-Hiyasat et al., 2004). De forma semelhante, a exposição ao bisfenol A (10,125 mg/dia) reduziu significativamente a taxa de implantação, contudo, quando foram utilizadas doses inferiores, não foi observado efeito sobre a implantação embrionária em camundongos (Berger et al., 2007). Estes autores, em 2008, verificaram que a administração durante quatro dias consecutivos de 10,125 mg de bisfenol A reduziu o número de locais de implantação uterina, seguido de redução nos níveis de progesterona urinária, ao passo que uma única injeção de 6,75 mg, no dia zero de gestação, ou de 10,125 mg, nos dias zero e um de gestação, foi suficiente para interromper a implantação embrionária. Além disso, o número de embriões a partir do 10^o e 12^o dias de gestação em camundongos foi drasticamente afetado quando expostos a 10 mg/kg/dia de bisfenol A entre os dias zero e sete de gestação (Tachibana et al., 2007).

Ao se avaliar o efeito da exposição ao bisfenol A em camundongos, foi verificada uma redução significativa na expressão de receptores de progesterona, porém não houve diferença no número de corpos lúteos entre animais expostos e não expostos durante os primeiros quatro dias de gestação (Berger et al., 2010). Por outro lado, coelhas expostas à ricina A tiveram uma redução de 30% no número de corpos lúteos, bem como no número de locais de implantação (Salhab et al., 1999). Estes resultados sugerem que a exposição aos DE durante o início da gestação pode interromper a implantação intrauterina. No entanto, é difícil entender o mecanismo de toxicidade produzida em embriões, devido à restrição de pesquisa com diferentes tipos e concentrações de DE.

Gestação e puberdade

Atualmente, verifica-se uma marcada concentração de estudos que avaliam os efeitos nocivos dos DE na Europa e nos EUA, e, em contrapartida, um número reduzido desses estudos em outras regiões, especialmente em países em desenvolvimento. Todavia, é nestas regiões que se concentram as atividades de agropecuária, extrativismo e mineração, expondo tanto animais quanto seres humanos a uma vasta gama de poluentes ambientais considerados como DE. A Tab. 2 apresenta uma compilação dos principais estudos presentes na literatura, classificados em função do país onde se desenvolveu a pesquisa e da espécie estudada, bem como em virtude do tipo, da utilização e dos efeitos dos DE.



Tabela 2. Distribuição geográfica da literatura sobre o efeito dos desreguladores endócrinos na função reprodutiva.

País	Espécie	Tipo DE	Classe	Utilização	Efeito	Referências
Alemanha	Rato	Di-(2-etilhexil) ftalato	Ftalato	Plastificante	Atraso no primeiro estro	Grande et al., 2007
Brasil	Rato	Di- η -butilftalato	Ftalato	Plastificante/ectoparasita	Não foi observado efeito no desempenho reprodutivo de fêmeas	Guerra et al., 2010
Canadá	Camundongo	Bisfenol A	Difenol	Plastificante	Redução na taxa de parição e prolificidade	Berger et al., 2007
França	Caprino	Bifenilpoliclorado	Organoclorado	Isolantes de equipamentos elétricos e óleo lubrificante	Resíduo no leite	Ounnas et al., 2010
Espanha	Rato	Dibutilftalato	Ftalato	Plastificante/ectoparasita	Atraso na puberdade	Salazar et al., 2004
Japão	Camundongo	Bisfenol A	Difenol	Plastificante	Redução no número de embriões e crias e aumento na mortalidade neonatal	Tachibana et al., 2007
	Ratos	Di-(2-etilhexil) ftalato	Ftalato	Plastificante	Atraso no primeiro estro	Ma et al., 2006
Jordânia	Coelho	Ricina A	Proteína inibidora de ribossomos	Adubo orgânico	Redução na taxa de gestação	Salhab et al., 1997
	Coelho	Ricina A	Proteína inibidora de ribossomos	Adubo orgânico	Aborto	Salhab et al., 1998
Noruega	Caprino	Bifenilpoliclorado	Organoclorado	Isolantes de equipamentos elétricos e óleo lubrificante	Alteração na secreção de cortisol durante a vida fetal e após a exposição	Zimmer et al., 2008
Reino Unido	Ovino	Lodo de esgoto	-	-	Redução na expressão do gene RNAm para GnRH	Bellingham, et al., 2010
	Ovino	Coquetel de DE	-	-	Alteração no padrão hormonal da pituitária fetal, sem influência no padrão materno	Bellingham, et al., 2009
Rússia	Humano	Metal pesado	Metal-	Construção civil	Atraso na puberdade	Wu et al., 2003
USA	Rato	Bisfenol A e fitoestrógeno	Difenol/Não esteroide	Plastificante/Alimentação	Puberdade precoce	Patisaul et al., 2009
	Rato	Di- η -butilftalato	Ftalato	Plastificante/ectoparasita	Não influencia a puberdade	Gray Jr. et al., 2006
	Rato	Dibutilftalato	Ftalato	Plastificante/ectoparasita	Não influencia a puberdade	Mylchreest et al., 2000
	Rato	Atrazina	Triazina	Herbicida	Atraso na puberdade	Stoker et al., 2002
	Rato	Atrazina	Triazina	Herbicida	Tumores na glândula mamária	Ashby et al., 2002



Alguns estudos vêm sendo conduzidos visando determinar qual a real influência dos DE em indivíduos que foram expostos durante a vida fetal, a lactação e a puberdade. Bellingham et al. (2010) observaram que fetos ovinos expostos a uma mistura de DE tiveram uma diminuição significativa na expressão de RNAm para a proteína e o receptor do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) no hipotálamo, demonstrando que os DE podem alterar drasticamente o eixo neuroendócrino fetal, com graves consequências para a vida adulta. Da mesma forma, Bellingham et al. (2009) observaram que a exposição de ovelhas gestantes a um complexo coquetel de DE provocou significativas alterações no padrão de secreção hormonal da pituitária fetal, sem ocasionar alterações no padrão de secreção hormonal materno.

Diversos trabalhos demonstram que os DE promovem perturbações no ambiente uterino com graves consequências sobre a manutenção da gestação e a sobrevivência neonatal. Segundo Takahashi et al. (2000) e Schonfelder et al. (2002), em ratos e humanos, respectivamente, os DE podem atravessar a barreira placentária e se acumular tanto na placenta quanto no feto. Berger et al. (2007) demonstraram que a exposição ao bisfenol A no início da gestação de camundongos diminuiu significativamente o percentual de fêmeas paridas e o número de crias. Tachibana et al. (2007), após oito administrações seguidas de 10 mg/kg de bisfenol A no início da gestação de camundongos, verificaram uma redução no número de embriões, de crias e um aumento na mortalidade neonatal. Da mesma forma, foi constatado que mulheres grávidas expostas ao bisfenol A conceberam bebês com peso ao nascimento inferior a mulheres não expostas (Miao et al., 2011). Além disso, estudos têm verificado que a exposição à ricina-A, um componente inibidor de proteína, apresenta característica abortiva. A administração oral de mamona (rica em ricina) por 10 dias antes da monta em coelhas resultou em uma diminuição de 4,3 vezes na taxa de gestação (Salhab et al., 1997). Após administração por três dias consecutivos de ricina A e extrato de mamona, Salhab et al. (1998) relataram que a gestação de coelhas foi interrompida. Estes últimos resultados são de importância no Brasil, visto que atualmente o principal destino dos co-produtos da mamona é na forma de adubo, principalmente na hortifruticultura.

Estudos têm sugerido que a exposição à DE durante a vida fetal de ratos resulta em mudanças irreversíveis na função reprodutiva das crias, devido ao acúmulo destes DE no organismo, promovendo efeitos negativos sobre o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, mesmo após o período de exposição (Ma et al., 2006). Zimmer et al. (2008) verificaram que a exposição de fetos caprinos ao bifenilpoliclorado, via ingestão materna, ao longo do desenvolvimento fetal e durante a lactação, afetou a concentração de cortisol durante a maturação sexual das crias, e este efeito foi observado meses após o período de exposição. Além disso, diversos autores têm demonstrado que a exposição à DE durante a vida fetal pode interferir no início da puberdade em diferentes espécies (Mouritsen et al., 2010). Segundo Grande et al. (2007) e Ma et al. (2006), a exposição de ratas ao di-(2-etilhexil) ftalato, considerado um DE, durante a gestação e lactação, promoveu atraso no início do primeiro cio.

Em condições fisiológicas, quando as fêmeas mamíferas entram na puberdade, ocorre uma série de alterações, como: aumento rápido do crescimento corporal, maturação das gônadas e do cérebro e aparecimento do primeiro estro (Hafez e Hafez, 2004). Neste período, o GnRH produzido no hipotálamo estimula a produção e a liberação de ambas as gonadotrofinas, LH e FSH, por meio da pituitária (adeno-hipófise; Terasawa e Fernandez, 2001). Estas gonadotrofinas agem diretamente sobre as gônadas, levando a um aumento dos níveis plasmáticos de estradiol e de outros hormônios requeridos para ciclicidade ovariana (Terasawa e Fernandez, 2001). Contudo, alguns trabalhos têm relatado que a idade de início da puberdade depende de vários fatores, incluindo a genética e o ambiente (Parent et al., 2003). No que se refere aos fatores ambientais, a exposição a agentes externos, como os DE, pode interagir com receptores hormonais e interferir na síntese e no metabolismo de hormônios, podendo alterar o início da puberdade. Essa hipótese foi comprovada por Patisaul et al. (2009), ao verificarem que ratos recém-nascidos expostos a diferentes poluentes ambientais (fitoestrógeno, bisfenol A e benzoato de estradiol) apresentaram puberdade precocemente. Independentemente do mecanismo de ação, acredita-se que tais substâncias podem interferir no desenvolvimento puberal em diferentes níveis, incluindo os sinais neuroendócrinos no eixo hipotálamo-hipófise, bem como nas gônadas e nos órgãos-alvo periféricos (Schoeters et al., 2008). No cérebro, os DE podem estimular neurônios, provocando uma maturação do hipotálamo e o início da puberdade precoce ou até mesmo prematura (Mouritsen et al., 2010). No entanto, alguns compostos podem agir de forma contrária por meio da inibição de gonadotrofinas por um mecanismo de *feedback* negativo. Salazar et al. (2004) verificaram que ratas adultas tratadas com dibutilftalato na dieta, em doses de 12 e 50 mg/kg por 2,5 meses antes do acasalamento, durante a gestação e a lactação, com posterior exposição direta dos filhotes até 12 semanas de idade, apresentaram um atraso evidente na ocorrência da abertura vaginal e do primeiro estro. Por outro lado, ratas tratadas com o di- η -butilftalato, em doses de 0,5, 5, 50, 100 ou 500 mg/kg, entre 12 e 21 dias de gestação (Mylchreest et al., 2000), e na dose de 500 mg/kg, com início no dia 22 pós-parto (Gray Jr. et al., 2006), não apresentaram alterações na idade à puberdade. Da mesma forma, Lee et al. (2004) demonstraram que o di- η -butilftalato, nas concentrações de 20, 200, 2000 e 10000 ppm, administrado por meio da dieta, não diminuiu a idade da abertura vaginal. Além disso, Guerra et al. (2010) não observaram efeito sobre o desenvolvimento e a função reprodutiva de ratas cujas mães foram expostas ao di- η -butilftalato durante a gestação e a lactação.

Em animais de laboratório e em humanos, vários estudos têm avaliado a associação entre o momento em que ocorre a puberdade e a exposição a diferentes produtos químicos, com ênfase nas ações endócrinas



(Rasier et al., 2008; Patisaul et al., 2009). Alguns estudos sustentam a hipótese de que os compostos exógenos podem causar efeitos clínicos, especialmente em crianças pré-púberes, por meio da detecção dos níveis de hormônios endógenos sexuais baixos ou mesmo indetectáveis (Mouritsen et al., 2010). Além disso, a exposição a metais tóxicos, como chumbo e mercúrio, tem sido associada a atraso na puberdade (Wu et al., 2003; Hauser et al., 2008). Assim, alguns estudos indicam que os efeitos do chumbo sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário (Dearth et al., 2002) estão diretamente relacionados com a supressão da expressão do gene GnRH, considerado o gatilho para a puberdade, constituindo, portanto, um relevante indicador do nível de alterações que está ocorrendo no eixo hipotalâmico e, conseqüentemente, no perfil endócrino do indivíduo (Gore et al., 2002).

A atrazina tem sido bastante utilizada nos últimos 40 anos, por ser um composto de meia-vida curta com insignificante bioacumulação no solo e pouco efeito em mamíferos adultos, sendo, pois, considerada um dos pesticidas mais seguros (Hayes, 2002). Apesar disso, Cooper et al. (2000) relataram que este composto pode ocasionar diversas disfunções endócrinas, incluindo atraso no início da puberdade (Stoker et al., 2002), redução no número de células germinativas no ovário (Tavera-Mendoza et al., 2002) e indução no envelhecimento reprodutivo prematuro, bem como na formação de tumores na glândula mamária (Ashby et al., 2002).

Considerações finais

Em conjunto, os DE podem interferir na função reprodutiva de forma direta ou indireta, entretanto os mecanismos envolvidos em cada fase reprodutiva são bastante específicos, com grau diverso de sensibilidade, podendo produzir efeitos diferentes em fases específicas ou provocar danos nas fases sucessivas. Isto se deve à grande diversidade das estruturas químicas dos DE, o que dificulta generalizar os mecanismos intracelulares envolvidos na sua toxicidade, bem como nos seus efeitos sobre as funções celulares. No entanto, a maioria dos dados atualmente disponíveis deriva de experimentos realizados em espécies de laboratório ou modelos *in vitro*, e, portanto, as extrapolações para outras espécies devem ser feitas com cautela. Em ruminantes, são pouco conhecidos os impactos dos contaminantes ambientais na função reprodutiva, bem como sua relevância sobre o desempenho produtivo destas espécies. Ademais, existem grandes preocupações sobre a saúde humana, uma vez que a incidência de câncer de mama em mulheres, uma doença que está correlacionada com a exposição aos DE, está aumentando a uma taxa de 2% a cada ano (Office for National Statistics, 2008). Neste sentido, novas investigações sobre os mecanismos envolvidos na ação destes compostos e o fornecimento de dados sobre os níveis de riscos serão úteis para que medidas visando à segurança à saúde pública sejam tomadas.

Agradecimentos

Liliane Moreira Silva é doutoranda e bolsista do CNPq (proc. n 551634/2010-3), e o Prof. Davide Rondina é bolsista de produtividade em pesquisa CNPq.

Referências

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).** Agrotóxicos e toxicologia: programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos: relatório anual. Citação e referências a documentos eletrônicos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 16 set. 2010.
- Al-Hiyasat AS, Darmani H, Elbetiha AM.** Leached components from dental composites and their effects on fertility of female mice. *Eur J Oral Sci*, v.112, p.267-272, 2004.
- Ashby J, Tinwell H, Stevens J, Pastoor T, Breckenridge C.** The effects of atrazine on the sexual maturation of female rats. *Regul Toxicol Pharm*, v.35, p.468-473, 2002.
- Avazeri N, Denys A, Lefevre B.** Lead cations affect the control of both meiosis arrest and meiosis resumption of the mouse oocyte *in vitro* at least via the PKC pathway. *Biochimie*, v.88, p.1823-1829, 2006.
- Azarnia M, Shakour A, Rostami P, Sanaie-Mehr A.** The protective role of l-cysteine against follicular atresia induced by lead in mouse ovary. *Acta Med Iranic*, v.42, p.83-88, 2004.
- Aziz MH, Agrawal AK, Adhami VM, Shukla Y, Seth PK.** Neurodevelopmental consequence of gestacional exposure (GD14- GD20) to low doses of deltamethrin in rats. *Neurosci Lett*, v.300, p.161-165, 2001.
- Baker HWG.** Male infertility. In: DeGroot LJ, Jameson JL (Ed.). *Endocrinology*. 4.ed. Philadelphia, PA: W.B.Saunders, 2001. p.2308-2328.
- Barros LF, Hermosilla T, Castro J.** Necrotic volume increase and the early physiology of necrosis. *Comp Biochem Phys A*, v.130, p.401-409, 2001.
- Bellingham M, Fowler PA, Amezaga MR, Rhind SM, Cotinot C, Mandon- Pepin B, Sharpe RM, Evans NP.** Exposure to a complex cocktail of environmental endocrine-disrupting compounds disturbs the kisspeptin/GPR54 system in ovine hypothalamus and pituitary gland. *Environ Hlth Perspect*, v.117, p.1556-1562, 2009.
- Bellingham M, Fowler PA, Amezaga MR, Whitelaw CM, Rhind SM, Cotinot C, Mandon-Pepin B, Sharpe RM, Evans NP.** Foetal hypothalamic and pituitary expression of Gonadotrophin-Releasing Hormone and



- Galanin Systems is disturbed by exposure to sewage sludge chemicals via maternal ingestion. *J Neuroendocrinol*, v.22, p.527-533, 2010.
- Berger RG, Foster W, de Catanzaro D.** Bisphenol-A exposure during the period of blastocyst implantation alters uterine morphology and perturbs measures of estrogen and progesterone receptor expression in mice. *Reprod Toxicol*, v.30, p.393-400, 2010.
- Berger RG, Hancock T, de Catanzaro D.** Influence of oral and subcutaneous bisphenol-A on intrauterine implantation of fertilized ova in inseminated female mice. *Reprod Toxicol*, v.23, p.138-144, 2007.
- Berger RG, Shaw J, de Catanzaro D.** Impact of acute bisphenol-A exposure upon intrauterine implantation of fertilized ova and urinary levels of progesterone and 17 β -estradiol. *Reprod Toxicol* v.26, p.94-99, 2008.
- Brevini TAL, Cillo F, Antonini S, Gandolfi F.** Effects of endocrine disrupters on the oocyte and embryo of farm animals. *Reprod Domest Anim*, v.40, p.291-299, 2005.
- Brevini TAL, Vassena R, Paffoni A, Francisci C, Fascio U, Gandolfi F.** Exposure of pig oocytes to PCBs during in vitro maturation: effects on developmental competence, cytoplasmic remodelling and communications with cumulus cells. *Eur J Histochem*, v.48, p.347-356. 2004.
- Campagna C, Sirard M, Ayotte P, Bailey JL.** Impaired maturation, fertilization, and embryonic development of porcine oocytes following exposure to an environmentally relevant organochlorine mixture. *Biol Reprod*, v.65, p.554-560, 2001.
- Can A, Semiz O, Cinar O.** Bisphenol-A induces cell cycle delay and alters centrosome and spindle microtubular organization in oocytes during meiosis. *Mol Hum Reprod*, v.11, p.389-396, 2005.
- Casas E, Bonilla E, Ducolomb Y, Betancourt M.** Differential effects of herbicides atrazine and fenoxaprop-ethyl, and insecticides diazinon and malathion, on viability and maturation of porcine oocytes in vitro. *Toxicol In Vitro*, v.24, p.224-230, 2010.
- Cooper RL, Stoker TE, Tyrey L, Goldman JM, McElroy WK.** Atrazine disrupts the hypothalamic control of pituitary-ovarian function. *Toxicol Sci*, v.53, p.297-307, 2000.
- Dearth RK, Hiney JK, Srivastava V, Burdick SB, Bratton GR, Dees WL.** Effects of lead (Pb) exposure during gestation and lactation on female pubertal development in the rat. *Reprod Toxicol*, v.16, p.343-352, 2002.
- Dobranic T, Dobranic V, Tomaskovic A, Cergolj M, Bedrica L, Markovic D.** The effect of cadmium salts on plasma hormone levels and histopathology of the ovaries in female rabbits. *Tierarztl Umsch*, v.57, p.539-540, 2002.
- Ducolomb Y, Casas E, Valdéz A, González G, Altamirano-Lozano M, Betancourt M.** In vitro effect of malathion and diazinon on oocytes fertilization and embryo development in porcine. *Cell Biol Toxicol*, v.25, p.623-633, 2009.
- Eichenlaub-Ritter U, Vogt E, Cukurcam S, Sun F, Pacchierotti F, Parry J.** Exposure of mouse oocytes to bisphenol A causes meiotic arrest but not aneuploidy. *Mutat Res*, v.651, p.82-92, 2008.
- Farber JL.** Membrane injury and calcium homeostasis in the pathogenesis of coagulative necrosis. *Lab Invest*, v.47, p.114-123, 1982.
- Feugier A, Frelon S, Gourmelon P, Claraz M.** Alteration of mouse oocyte quality after a subchronic exposure to depleted uranium. *Reprod Toxicol*, v.26, p.273-277, 2008.
- Fowler PA, Dorà NJ, McFerran H, Amezaga MR, Miller DW, Lea RG, Cash P, McNeilly AS, Evans NP, Cotinot C, Sharpe RM, Rhind SM.** In utero exposure to low doses of environmental pollutants disrupts fetal ovarian development in sheep. *Mol Hum Reprod*, v.14, p.269-280, 2008.
- Garry VF, Harkins M, Lyubimov A, Erickson L, Long L.** Reproductive outcomes in women of the Red River Valley of the north. I. The spouses of pesticide applicators: pregnancy loss, age at menarche, and exposures to pesticides. *J Toxicol Environ Hlth*, v.65, n.11, p.769-786, 2002.
- Gore AC, Wu TJ, Oung T, Lee JB, Woller MJ.** A novel mechanism for endocrine-disrupting effects of polychlorinated biphenyls: direct effects on gonadotropin-releasing hormone neurons. *J Neuroendocrinol*, v.14, p.814-823, 2002.
- Grande SW, Andrade JM, Talsness CE, Grote K, Golombiewski A, Sterner-Kock A, Chahoud I.** A dose-response study following in utero and lactational exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): reproductive effects on adult female offspring rats. *Toxicology*, v.229, p.114-122, 2007.
- Grasselli F, Baratta L, Baioni L, Bussolati S, Ramonib R, Grolli S, Basini G.** Bisfenol A disrupts granulosa cell function. *Domest Anim Endocrin*, v.39, p.34-39, 2010.
- Gray Jr. LE, Laskey J, Ostby J.** Chronic di- η -butyl phthalate exposure in rats reduces fertility and alters ovarian function during pregnancy in female Long Evans Hooded rats. *Toxicol Sci*, v.93, p.189-95, 2006.
- Guerra MT, Scarano WR, Toledo FC, Franci JAA, Kempinas WG.** Reproductive development and function of female rats exposed to di- η -butyl-phthalate (DBP) in utero and during lactation. *Reprod Toxicol*, v.29, p.99-105, 2010.
- Hafez ESE, Hafez B.** Reprodução animal. 7.ed. São Paulo: Manole, 2004. p.173-180.
- Hausburg MA, DeKrey GK, Salmen JJ, Palic MR, Gardiner CS.** Effects of paraquat on development of preimplantation embryos in vivo and in vitro. *Reprod Toxicol*, v.20, p.239-246, 2005.
- Hauser R, Sergeev O, Korrnick S, Lee MM, Revich B, Gitin E, Burns JS, Williams PL.** Association of



- blood lead levels with onset of puberty in Russian boys. *Environ Hlth Perspect*, v.116, p.976-980, 2008.
- Hayes TB, Collins A, Lee M, Mendoza M, Noriega N, Stuart A, Vonk A.** Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.99, p.5476-5480, 2002.
- Hunt PA, Koehler KE, Susiarjo M, Hodges CA, Ilagan A, Voigt RC, Thomas S, Thomas BF, Hassold TJ.** Bisfenol A exposure causes meiotic aneuploidy in the female mouse. *Curr Biol*, v.13, p.546-553, 2003.
- Hussein M R.** Apoptosis in the ovary: molecular mechanisms. *Hum Reprod Update*, v.11, p.162-178, 2005.
- Kamarianos A, Karamanlis X, Goulas P, Theodosiadou E, Smokovitis A.** The presence of environmental pollutants in the follicular fluid of farm animals (cattle, sheep, goats, and pigs). *Reprod Toxicol*, v.17, p.185-190, 2003.
- Kavlock RJ, Ankley, GT.** A perspective on the risk assessment process for endocrine-disruptive effects on wildlife and human health. *Risk Anal*, v.6, p.16, 1996.
- Lee KY, Shibutani M, Takagi H, Kato N, Takigami S, Uneyama C, Hirose M.** Diverse developmental toxicity of di- η -butyl phthalate in both sexes of rat offspring after maternal exposure during the period from late gestation through lactation. *Toxicology*, v.203, p.221-238, 2004.
- Lenie S, Cortvrindt R, Eichenlaub-Ritter U, Smitz J.** Continuous exposure to bisfenol A during in vitro follicular development induces meiotic abnormalities. *Mutat Res*, v.651, p.71-81, 2008.
- Leoni G, Bogliolo L, Deiana G, Berlinguer F, Rosati I, Pintus PP, Ledda S, Naitana S.** Influence of cadmium exposure on in vitro ovine gamete dysfunction. *Reprod Toxicol*, v.16, p.371-377, 2002.
- Lovekamp-Swan T, Davis BJ.** Mechanisms of phthalate ester toxicity in the female reproductive system. *Environ Hlth Perspect*, v.111, p.139-145, 2003.
- Ma M, Kondo T, Ban S, Umemura T, Kurahashi N, Takeda M, Kishi R.** Exposure of prepubertal female rats to inhaled di(2-ethylhexyl)phthalate affects the onset of puberty and postpubertal reproductive functions. *Toxicol Sci*, v.93, p.164-171, 2006.
- Majdič G.** Endocrine disrupting chemicals and domestic animals. *Slov Vet Res*, v. 47, p.5-11, 2010.
- Meador JP, McCarty LS, Escher BI, Adams WJ.** The tissue-residue approach for toxicity assessment: concepts, issues, applications, and recommendations. *J Environ Monitor*, v.10, p.1486-1498, 2008.
- Miao M, Yuan W, Zhu G, He X, Li De-K.** In utero exposure to bisphenol-A and its effect on birth weight of offspring. *Reprod Toxicol*, v.32 p.64-68, 2011.
- Mlynarcikova A, Kolena J, Fickova M, Scsukova S.** Alterations in steroid hormone production by porcine ovarian granulosa cells caused by bisphenol A and bisphenol A dimethacrylate. *Mol Cell Endocrinol*, v.244, p.57-62, 2005.
- Mlynarcikova A, Nagyova E, Fickov M, Scsukova S.** Effects of selected endocrine disruptors on meiotic maturation, cumulus expansion, synthesis of hyaluronan and progesterone by porcine oocyte-cumulus complexes. *Toxicol In Vitro*, v.23, p.371-377, 2009.
- Mouritsen A, Aksglaede L, Sørensen K, Sloth Mogensen S, Leffers H, Main KM, Frederiksen H, Andersson AM, Skakkebaek NE, Juul A.** Hypothesis: exposure to endocrine-disrupting chemicals may interfere with timing of puberty. *Int J Androl*, v.33, p.346-359, 2010.
- Mylchreest E, Wallace DG, Cattley RC, Foster PMD.** Dose-dependent alterations in androgen-regulated male reproductive development in rats exposed to di(η -butyl) phthalate during late gestation. *Toxicol Sci*, v.55, p.143-51, 2000.
- Nandi S, Gupta PS, Selvaraju S, Roy SC, Ravindra JP.** Effects of exposure to heavy metals on viability, maturation, fertilization, and embryonic development of buffalo (*Bubalus bubalis*) oocytes in vitro. *Arch Environ Con Toxicol*, v.58, p.194-204, 2010.
- Office for National Statistics.** Cancer statistics registrations: registrations of cancer diagnosed in 2005, England. London, UK: National Statistics, 2008. (Series MB1 no. 36).
- Ounnas F, Feidt C, Toussaint H, Marchand P, Bizec BL, Rychen G, Jurjanz S.** Polychlorinated biphenyl and low polybrominated diphenyl ether transfer to milk in lactating goats chronically exposed to contaminated soil. *Environ Sci Technol*, v.44, p.2682-2688, 2010.
- Parent AS, Teilmann G, Juul A, Skakkebaek NE, Toppari J, Bourguignon JP.** The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and changes after migration. *Endocr Rev*, v.24, p.668-693, 2003.
- Patisaul HB, Todd KL, Mickens JA, Adewale HB.** Impact of neonatal exposure to the ER α agonist PPT, bisphenol-A or phytoestrogens on hypothalamic kisspeptin fiber density in male and female rats. *Neurotoxicology*, v.30, p.350-357, 2009.
- Paul C, Rhind SM, Kyle CE, Scott H, McKinnell C, Sharpe RM.** Cellular and hormonal disruption of fetal testis development in sheep reared on pasture treated with sewage sludge. *Environ Hlth Persp*, v.113, p.1580-1587, 2005.
- Petro EML, Leroy JLMR., Covaci A, Franssen E, Neubourg DD, Dirtu AC, Pauw ID, Bols PEJ.** Endocrine-disrupting chemicals in human follicular fluid impair in vitro oocyte developmental competence. *Hum Reprod*, v.0, p.1-9, 2012.



- Perez-Reyes PL, Sanchez-Alonso JA, Lopez-Aparicio P, Recio MN, Perez-Albarsanz MA.** Different molecular capacity in the induction of apoptosis by polychlorinated biphenyl congeners in rat renal tubular cell cultures. *Biosci Reprod*, v.21, p.765-778, 2001.
- Pocar P, Augustin R, Gandolfi F, Fischer B.** Toxic effects of in vitro exposure to p-tert-octylphenol on bovine oocyte maturation and developmental competence. *Biol Reprod*, v.69, p.462-468, 2003.
- Pocar P, Brevini TA, Perazzoli F, Cillo F, Modina S, Gandolfi F.** Cellular and molecular mechanisms mediating the effects of polychlorinated biphenyls on oocyte developmental competence in cattle. *Mol Reprod Dev*, v.60, p.535-541, 2001a.
- Pocar P, Nestler D, Risch M, Fischer B.** Apoptosis in bovine cumulus-oocyte complexes after exposure to polychlorinated biphenyl mixtures during in vitro maturation. *Reproduction*, v.130, p.857-868, 2005.
- Pocar P, Perazzoli F, Luciano AM, Gandolfi F.** In vitro reproductive toxicity of polychlorinated biphenyls: effects on oocyte maturation and developmental competence in cattle. *Mol Reprod Dev*, v.58, p.411-416, 2001b.
- Rasier G, Parent AS, Gerard A, Denooz R, Lebrethon MC, Charlier C, Bourguignon JP.** Mechanisms of interaction of endocrinedisrupting chemicals with glutamate-evoked secretion of gonadotropin- releasing hormone. *Toxicol Sci*, v.102, p.33-41, 2008.
- Rhind SM, Evans NP, Bellingham M, Sharpe RM, Cotinot C, Mandon-Pepin B, Loup B, Sinclair KD, Lea RG, Pocar P, Fischer B, van der Zalm E, Hart K, Schmidt JS, Amezaga MR, Fowler PA.** Effects of environmental pollutants on the reproduction and welfare of ruminants. *Animal*, v.4, p.1227-1239, 2010.
- Rodriguez-Tellez BE, Marcano L, Villamediana-Monreal PC.** Effects of cadmium chloride exposure on in vitro maturation of bovine oocytes. *Rev Cient*, v.15, p.443-450, 2005.
- Rubin BS.** Bisphenol A: an endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *J Steroid Biochem*, v.127, p.27-34, 2011.
- Salazar V, Castillo C, Ariznavarreta C, Campón R, Tresguerres JAF.** Effect of oral intake of dibutyl phthalate on reproductive parameters of Long Evans rats and pre-pubertal development of their offspring. *Toxicology*, v.205, p.131-137, 2004.
- Salazar Z, Ducolomb Y, Betancourt M, Bonilla E, Cortés L, Hernández-Hernández F, González-Márquez H.** Gene expression analysis on the early development of pig embryos exposed to malathion. *Int J Toxicol*, v.26, p.143-149, 2007.
- Salhab AS, Al-Tamimi SO, Gharaibeh MN, Shomaf MS.** The abortifacient effects of castor bean extract and ricin A-chain in rabbits. *Contracept*, v.58, p.193-197, 1998.
- Salhab AS, Issa AA, Alhougog I.** On the contraceptive effect of castor beans. *Int J Pharmacogn*, v.35, p.63-65, 1997.
- Salhab AS, Shomaf MS, Gharaibeh MN, Amer NA.** Effects of castor bean extract and ricin a-chain on ovulation and implantation in rabbits. *Contraception*, v.59, p.395-399, 1999.
- Saumande J.** La folliculogenèse chez les ruminants. *Rec Med Vét*, v.167, p.205-218, 1991.
- Schoeters G, Den Hond E, Dhooge W, van Larebeke N, Leijs M.** Endocrine disruptors and abnormalities of pubertal development. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, v.102, p.168-175, 2008.
- Schonfelder G, Wittfoht W, Hopp H, Talsness CE, Paul M, Chahoud I.** Parent bisphenol A accumulation in the human maternal-fetal-placental unit. *Environ Health Perspect*, v.110, p.703-707, 2002.
- Silberstein T, Saphier O, Paz-Tal O, Trimarchi JR, Gonzalez L, Keefe DL.** Lead concentrates in ovarian follicle compromises pregnancy. *J Trace Elem Med Biol*, v.20, p.205-207, 2006.
- Stoker TE, Guidici DL, Laws SC, Cooper RL.** The effects of atrazine metabolites on puberty and thyroid function in the male Wistar rat. *Toxicol Sci*, v.67, p.198-206, 2002.
- Sultan C, Balaguer P, Terouanne B, Georget V, Paris F, Jeandel C, Lumbroso S, Nicolas J.** Environmental xenoestrogens antiandrogens and disorders of male sexual differentiation. *Mol Cell Endocrinol*, v.178, p.99-105, 2001.
- Tachibana T, Wakimoto Y, Nakamuta N, Phichitraslip T, Wakitani S, Kusakabe K, Hondo E, Kiso Y.** Effects of bisphenol A (BPA) on placentation and survival of the neonates in mice. *J Reprod Dev*, v.53, p.509-514, 2007.
- Takahashi O, Oishi S.** Disposition of orally administered 2,2-bis(4-hydroxyphenyl) propane (bisphenol A) in pregnant rats and the placental transfer to fetuses. *Environ Health Perspect*, v.108, p.931-935, 2000.
- Tavera-Mendoza L, Ruby S, Brousseau P, Fournier M, Cyr D, Marcogliese D.** Response of the amphibian tadpole *Xenopus laevis* to atrazine during sexual differentiation of the ovary. *Environ Toxicol Chem*, v.21, p.1264-1267, 2002.
- Terasawa E, Fernandez DL.** Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates. *Endocr Rev*, v.22, p.111-151, 2001.
- Tilly JL.** Commuting the death sentence: how oocytes strive to survive. *Nat Rev Mol Cell Biol*, v.2, p.838-848, 2001.
- Van Den Hurk R, Zhao J.** Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. *Theriogenology*, v.63, p.1717-1751, 2005.
- Waller RF, Ralph SA, Reed MB, Su V, Douglas JD, Minnikin DE, Cowman AF, Besra GS, Mc Fadden GI.**



A type II pathway for fatty acid biosynthesis presents drug targets in *Plasmodium falciparum*. *Antimicrob Agents Chemother*, v.47, p.297-301, 2003.

Wu T, Buck GM, Mendola P. Blood lead levels and sexual maturation in u.s. girls: the third national health and nutrition examination survey, 1988-1994. *Environ Health Perspect*, v.111, p.737-741, 2003.

Younglai EV, Foster WG, Hughes EG, Trim K, Jarrell JF. Levels of environmental contaminants in human follicular fluid, serum, and seminal plasma of couples undergoing in vitro fertilization. *Arch Environ Contam Toxicol*, v.43, p.121-126, 2002.

Zhou W, Liu J, Liao L, Han S, Liu J. Effect of bisphenol A on steroid hormone production in rat ovarian theca-interstitial and granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol*, v.283, p.12-18, 2008.

Zimmer KE, Gutle AC, Lyche JL, Dahl E, Oskam IC, Krogenæs A, Skaare JU, Ropstad E. Altered stress-induced cortisol levels in goats exposed to polychlorinated biphenyls (PCB 126 and PCB 153) during fetal and postnatal development. *J Toxicol Environ Health*, v.72, p.164-172, 2008.
